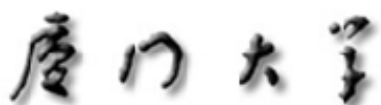


学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 21620100153921

UDC _____



博 士 学 位 论 文

泛素特异性蛋白酶 USP4 通过组蛋白去乙酰化酶 HDAC2 调控 p53 转录活性的分子机制及生物学功能研究

The Molecular Mechanisms and Biological Functions on Regulation of p53 Transcriptional Activity by Ubiquitin-Specific Protease USP4 through Histone Deacetylase HDAC2

郝穹予

指导教师姓名: 陈建明 研究员

韩家淮 教授

专 业 名 称: 细 胞 生 物 学

论文提交日期: 年 月 日

论文答辩日期: 年 月 日

学位授予时间: 年 月 日

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2013 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题（组）的研究成果，获得（ ）课题（组）经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- () 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于
年 月 日解密，解密后适用上述授权。
- () 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

泛素-蛋白酶体通路是蛋白质选择性降解中一项非常重要的机制，蛋白酶体识别多聚泛素化蛋白质，并将其降解。去泛素化酶主要作用是切断泛素链与底物蛋白之间的连接，使蛋白底物重新进入细胞内蛋白调节的循环中。蛋白质乙酰化与去乙酰化是可逆的翻译后修饰过程：乙酰化基团在蛋白乙酰化酶的催化作用下添加到底物蛋白 Lys 上而蛋白质去乙酰化酶则介导从底物蛋白 Lys 残基上去除乙酰化基团。已有的研究表明，组蛋白去乙酰化酶 HDACs 在基因转录调控中起重要作用，除了调节组蛋白的乙酰化状态外还可以去乙酰化调节若干非组蛋白蛋白质包括 p53 在内的多种转录因子的活性。

我们在寻找稳定 HDAC2 的去泛素化酶过程中发现原癌蛋白 USP4 能够直接与 HDAC2 结合，而 USP4 能够直接结合 HDAC2 尚未见报道，所以我们进一步探究 USP4 与 HDAC2 作用的分子机制，mapping 实验显示，USP4 的 N 末端（1-188aa）和 C 末端（302-963aa）不能结合 HDAC2，而 188-302 是 USP4 结合 HDAC2 所必需，而在 188-302 氨基酸之间存在一个类泛素结构域(ubiquitin-like domain, UBL)，UBL 结构域在不同的 USP 成员中有不同的作用，我们推测，188-302aa 中的 UBL 结构域可能是促进了 USP4 的催化活性。而 HDAC2 的 N-322 氨基酸包括去乙酰化的催化区，是与 USP4 结合所必备的。

作为去泛素化酶家族中的重要一员，已报道的 USP4 的底物蛋白大约有十几个，接下来我们验证 USP4 是否能够作为去泛素化酶调节 HDAC2 的蛋白质水平，结果显示 HDAC2 蛋白质水平的升高与 USP4 表达水平的升高一致，p53 的蛋白质水平与 USP4 无明显关联。体内泛素化实验表明过表达 USP4 导致 HDAC2 的泛素化程度明显降低。在 U2OS 细胞中分别敲降 USP4 和 HDAC2，结果显示随着 USP4 的降低，HDAC2 的表达也减少，而 HDAC2 并不改变 USP4 的蛋白质水平，p53 的蛋白质水平不随这 2 个基因表达水平的改变而改变。降低 USP4 之后，HDAC2 的 mRNA 水平并未明显改变，这些结果表明了 USP4 对 HDAC2 的调控是在蛋白质水平，而非在 mRNA 水平。半衰期实验表明，USP4 能够缓解 CHX 导致的 HDAC2 蛋白质水平降低，这些实验表明 USP4 是 HDAC2 的去泛素化酶。

鉴于我们之前的实验结果和文献报道,我们试想 USP4 能否通过 HDAC2 调节 p53 的转录活性?乙酰化实验显示 HDAC2 可以去乙酰化 p53,而且 USP4 能够通过 HDAC2 降低 p53 的乙酰化水平。荧光素酶报告基因方法验证了 USP4 可以抑制 p53 的转录活性,并且在 HDAC2 敲降的 U2OS 细胞中,USP4 对 p53 的抑制作用显著缓解。在 mRNA 水平,Real-time PCR 实验显示 USP4 并不改变 HDAC2, p53 的 mRNA 水平,而降低了 p53 下游的 MDM2, PUMA, BAX, p21 的表达。细胞存活率实验显示,USP4 能够促进细胞存活。细胞凋亡实验结果显示,USP4 通过 HDAC2 对 etoposide 诱导的细胞凋亡有显著的抑制作用。在免疫荧光染色实验中,U2OS 细胞中 USP4, HDAC2、p53 在细胞核和细胞质中都有表达。以上数据阐述了一种调控 p53 转录活性的机制,即 USP4 通过去泛素化稳定 HDAC2 去乙酰化 p53,抑制 p53 的转录活性。

关键词: USP4, HDAC2, p53

Abstract

Ubiquitin-proteasome pathway is a very important mechanism in selective degradation of proteins. Proteasomes identify the protein with poly-ubiquitin chains and degrade it. De-ubiquitination enzymes primarily act on ubiquitinated protein substrate, spin off the single ubiquitin molecules into the protein cycle in cell. Protein acetylation refers to the process to add an acetyl group on Lys residue of proteins catalyzed by lysine acetyltransferase while deacetylation refers that deacetylases remove acetyl group from a Lys residue of substrate proteins. Deacetylases HDACs play an important role in gene transcription expression. In addition to regulating histone acetylation status, they can also regulate lots of non-histone proteins including multiple transcription factors. p53 is the gene with the highest correlation to human tumor so far, which is an important tumor suppressor gene called "gene Guardian". Various types of post-translational modification regulate the stability, activity of p53, affecting the expression of p53 target genes. Acetylation of p53 plays an important role in recruitment of co-factors and activation of downstream genes.

In the process of looking for ubiquitination enzymes of HDAC2, we found an oncoprotein USP4 which was coimmunoprecipitated with HDAC2. We further explored the molecular mechanism on the interaction between USP4 and HDAC2. Mapping experiments showed that USP4-NT-188 or 302-CT alone is not sufficient to bind HDAC2, and 188-302 is required. There is a ubiquitin-like domain (UBL) between the 188-302 amino acid, we speculate that the UBL domain in USP4-188-302 may facilitate catalytic activity of USP4. The HDAC2-NT-322aa including deacetylase catalytic activity is essential to combine with USP4.

As important one of de-ubiquitination enzymes family, USP4 has about a dozen of substrate proteins had been reported. The results show elevated HDAC2 protein levels were the same with increased expression levels of USP4, p53 protein levels had no significant correlation with USP4. Ubiquitination experiments in vivo showed that

overexpression of USP4 causes HDAC2 ubiquitination level significantly reduced. After knockdown of USP4, HDAC2 mRNA levels have no significantly change. These results indicate that USP4 regulates HDAC2 at the protein level, not mRNA. Protein half-life experiments show that USP4 can ease synthesis inhibition of HDAC2 caused by CHX. All these experiments showed that USP4 is a de-ubiquitination enzyme of HDAC2.

Acetylation experiments show HDAC2 can deacetylate p53, and USP4 can reduce the level of p53 acetylation through HDAC2. Luciferase reporter gene assays verified the USP4 can inhibit p53 transcriptional activity through HDAC2. At the mRNA level, Real-time PCR experiments showed USP4 does not change mRNA levels of HDAC2 and p53, however, reduces the expression of p53 downstream gene MDM2, PUMA, BAX, p21. Cell viability experiments showed, USP4 can promote cells survival. Apoptosis experimental show that USP4 inhibited etoposide-induced apoptosis through HDAC2. In immunofluorescence experiments, USP4, HDAC2, p53 located at the nucleus and cytoplasm in U2OS cells. The above data describes a mechanism for regulating the transcriptional activity of p53, which USP4 inhibits p53 transcriptional activity through deubiquitination and stability of HDAC2.

KEY WORDS: USP4, HDAC2, p53

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT	III
目 录.....	V
TABLE OF CONTENTS.....	VIII
缩略词表	X
第一章 前言	1
1.1 蛋白质的降解与泛素化	1
1.1.1 蛋白质降解系统的拓扑学多样性.....	1
1.1.2 泛素介导的蛋白质降解.....	2
1.2 去泛素化系统与 USP4	9
1.2.1 去泛素化系统简介.....	9
1.2.2 去泛素化酶分类.....	10
1.2.3 去泛素化酶与细胞生理活动.....	11
1.2.4 USP4.....	14
1.3 乙酰化与 p53 信号通路	15
1.3.1 乙酰化简介.....	15
1.3.2 乙酰化酶.....	16
1.3.3 蛋白质乙酰化修饰的类型.....	17
1.3.4 组蛋白乙酰化.....	18
1.3.5 非组蛋白乙酰化.....	19
1.3.6 代谢酶的乙酰化修饰.....	20
1.3.7 p53 简介.....	22
1.3.8 p53 的翻译后修饰及其功能的调节.....	23
1.3.9 p53 乙酰化.....	25
1.3.10 p53 的去乙酰化.....	28
1.3.11 各修饰间的相互作用.....	29
1.4 去乙酰化酶与 HDAC2.....	30
1.4.1 去乙酰化酶.....	30
1.4.2 HDAC2.....	33

第二章 材料和方法	37
2.1 常用药品试剂和仪器	37
2.1.1 常用药品和试剂	37
2.1.2 常用仪器	39
2.2 分子克隆技术	40
2.2.1 质粒载体	40
2.2.2 大肠杆菌感受态细胞的制备	42
2.2.3 DNA 转化	43
2.2.4 质粒 DNA 的提取	43
2.2.5 DNA 的限制性内切酶消化	46
2.2.6 DNA 片段的纯化	47
2.2.7 DNA 连接反应	48
2.2.8 RNA 干扰表达质粒的构建	48
2.2.9 快速点突变	49
2.3 细胞培养及转染	49
2.3.1 细胞培养	49
2.3.2 瞬时转染	50
2.3.3 慢病毒的包装	50
2.3.4 慢病毒感染目的细胞	51
2.3.5 稳定表达细胞株的筛选	51
2.4 蛋白质相关实验方法	52
2.4.1 免疫共沉淀	52
2.4.2 测蛋白浓度(改良的 Bradford 法)	53
2.4.3 蛋白质的 SDS-PAGE 电泳与 western blot 分析	53
2.4.4 Taq/Pfu DNA 聚合酶的制备	55
2.5 细胞生长相关实验	56
2.5.1 MTT 实验检测细胞存活率	56
2.5.2 荧光素酶报告系统分析	56
2.5.3 利用流式细胞仪检测细胞凋亡	57
2.6 REAL-TIME PCR 检测特定基因表达	58
2.6.1 细胞总 RNA 提取	58
2.6.2 逆转录合成 cDNA	59
2.6.3 实时荧光定量 PCR	59
2.6.4 荧光共聚焦显微分析	60
第三章 结果与讨论	62
3.1 结果	62
3.1.1 去泛素化酶 USP4 是一个新的 HDAC2 结合蛋白	62
3.1.2 USP4 去泛素化并稳定 HDAC2	65

3.1.3 USP4 抑制 p53 的乙酰化水平, 并降低 p53 的转录活性	71
3.1.4 USP4 调控细胞的存活和凋亡	74
3.1.5 USP4 通过 HDAC2 抑制 p53 的转录活性	76
3.1.6 U2OS 细胞中 USP4 和 HDAC2 的亚细胞定位	80
3.2 讨论	81
参考文献	86
图表索引	95
致 谢	97

TABLE OF CONTENTS

ABBREVIATIONS	XI
----------------------------	-----------

CHAPTER 1 INTRODUCTION.....	1
------------------------------------	----------

1.1 PROTEIN DEGRADATION AND UBIQUITINATION	1
---	----------

1.1.1 Topological diversity of protein degradation system	1
---	---

1.1.2 Ubiquitin-mediated protein degradation	2
--	---

1.2 DEUBIQUITINATION AND USP4	9
--	----------

1.2.1 General introduction	9
----------------------------------	---

1.2.2 Category of deubiquitination enzymes	10
--	----

1.2.3 Deubiquitinationenzymes and cellular physiological activities.....	11
--	----

1.2.4 USP4	14
------------------	----

1.3 ACETYLATION AND P53 SIGNALING PATHWAYS	15
---	-----------

1.3.1 General introduction	15
----------------------------------	----

1.3.2 Acetylase.....	16
----------------------	----

1.3.3 Modification type of protein acetylation.....	17
---	----

1.3.4 Histone acetylation.....	18
--------------------------------	----

1.3.5 Non-histone acetylation	19
-------------------------------------	----

1.3.6 Acetylation of metabolic enzymes.....	20
---	----

1.3.7 General introduction of p53	22
---	----

1.3.8 Post-translational modifications and functions of regulation of p53	23
---	----

1.3.9 Acetylation of p53.....	26
-------------------------------	----

1.3.10 Deacetylation of p53	28
-----------------------------------	----

1.3.11 Interaction between modifications.....	29
---	----

1.4 DEACETYLASE AND HDAC2	31
--	-----------

1.4.1 Deacetylase	31
-------------------------	----

1.4.2 HDAC2	34
-------------------	----

CHAPTER 2 MATERIALS AND METHODS.....	37
---	-----------

2.1 CHEMICALS REAGENTS AND INSTRUMENTS	37
---	-----------

2.1.1 Chemicals reagents	37
--------------------------------	----

2.1.2 Instruments.....	39
------------------------	----

2.2 MOLECULAR CLONING.....	40
-----------------------------------	-----------

2.2.1 Vectors.....	40
--------------------	----

2.2.2 Preparation of E. coli competent cells	42
--	----

2.2.3 DNA transformation.....	43
-------------------------------	----

TABLE OF CONTENTS

2.2.4 DNA preparation	43
2.2.5 Enzymatic manipulation of plasmid DNA	46
2.2.6 Purification of DNA fragments	47
2.2.7 DNA ligation	48
2.2.8 Construction of plasmids for RNA interference	49
2.2.9 Site-directed mutagenesis	49
2.3 CELL CULTURE AND TRANSFECTION	49
2.3.1 Cell culture	49
2.3.2 Transient transfection	50
2.3.3 Lentivirus packaging	50
2.3.4 Infection of Lentivirus	51
2.3.5 Selection of stable cell line	51
2.4 PROTEIN EXPERIMENTS	52
2.4.1 Immuno co-precipitation	52
2.4.2 Measuring protein concentration	53
2.4.3 SDS-PAGE electrophoresis and western blot analysis	53
2.4.4 Preparation of Taq/Pfu DNA polymerase	55
2.5 CELL GROWTH WORK	56
2.5.1 MTT assay for cell viability	56
2.5.2 Luciferase reporter system analysis	56
2.5.3 Flow cytometry detected the cell apoptosis	57
2.6 REAL-TIME PCR	58
2.6.1 Isolation of total RNA from cells	58
2.6.2 Synthesis of cDNA by reverse transcription	59
2.6.3 qPCR	59
2.6.4 Confocal microscopic analysis	60
CHAPTER 3 RESULTS AND DISCUSSION	62
3.1 RESULTS	62
3.1.1 USP4 is a new HDAC2 -binding protein	62
3.1.2 USP4 deubiquitinate and stabilize HDAC2	65
3.1.3 USP4 inhibits acetylation and reduces the transcriptional activity of p53 ..	71
3.1.4 USP4 regulate cell survival and apoptosis through HDAC2	76
3.1.5 The subcellular localization of USP4 and HDAC2 in U2OS cells	79
3.2 DISCUSSION	82
REFERENCES	87
CHART INDEX	96
ACKNOWLEDGEMENT	98

缩略词表

homologous to E6 AP Carboxyl Terminus, HECT	HECT 结构域
Really Interesting New Gene, RING	RING -finger 结构域
ubiquitin proteasome pathway, UPP	泛素蛋白酶体通路
anaphase promoting complex, APC	促细胞分裂后期复合物
ubiquitin C-terminal hydrolases, UCHs	泛素羧基末端水解酶家族
ubiquitin-specific proteases, USPs	泛素特异性蛋白酶家族
Jab1/MPN domain- associated metallo isopeptidase, JAMM	Jab1/MPN 域相关金属异肽酶
House keeping DUBs	管家去泛素化酶
turban tumour syndrome or cylindromatosis	头帕肿瘤综合症
Parkinson's disease, PD	帕金森病
Alzheimer's disease, AD	阿尔茨海默症
neurofibrillary tangle, NFT	神经神经原纤维缠结
domain present in ubiquitin-specific proteases, DUSP domain	DUSP 结构域
ubiquitin-likefold domain, UBL domain	UBL 结构域
transforming growth factor-activated kinase-1, TAK1	TAK1 激酶
lysine acetyltransferase, KATs	蛋白质乙酰化酶
lysine deacetyltransferase, KDACs	蛋白质去乙酰化酶
histone acetyltransferase, HATs	组蛋白乙酰化酶
histone deacetyltransferase, HDACs	组蛋白去乙酰化酶
Gcn5 related N-acetyltransferase, GNAT	GNAT 家族
Creb binding protein, CBP	CBP 家族
deleted in breast cancer gene 1, DBC1	DBC1 基因
MOZ, YBF2/SAS3, SAS2, Tip60	MYST 家族
amino acids, AA	氨基酸
general transcription factor , GTF	基本转录因子

缩略词表

N-alpha-acetyltransferases, NAT	N- α -乙基转移酶
papillary thyroid carcinoma, PTC	甲状腺乳头状癌
Omithine carbamoyltransferase, OTC	鸟氨酸氨甲酰转移酶
carbamoyl phosphate, CP	氨甲酰磷酸
silent information regulator, SIR	沉默信息调节因子
carbamoyl phosphate synthetase 1, CPS1	氨甲酰磷酸合成酶
long-chain acyl coenzyme A dehydrogenase, LCAD	长链脂酰基辅酶 A 脱氢酶
malate dehydrogenase, MDH	苹果酸脱氢酶
arbamoyl phosphate	氨甲酰磷酸
small ubiquitin-like modifier, SUMO	小分子类泛素修饰蛋白
estrogen receptor, ER	雌激素受体
DNA methyltransferase 1, DNMT1	DNA 甲基转移酶
protein arginine methyltransferase, PRMT5	精氨酸甲基转移酶
simian virus, SV40	猿猴病毒 40

第一章 前言

1.1 蛋白质的降解与泛素化

20 世纪 50 年代, Walson 和 Crick 解读 DNA 的双螺旋结构, 建立了生物学中心法则。在此突出成就的影响下, 接下来的几十年里, 大多数生物学工作者的研究兴趣都集中于研究中心法则, 即 DNA 所携带的遗传信息是如何复制、转录和翻译的。极少数人对蛋白质的“死亡”, 即蛋白质降解感兴趣。在 20 世纪 40 年代初期, 人们甚至不相信蛋白质“死亡”一说。因此, 研究蛋白质“死亡”在当时是逆潮流而行。现在人们认识到“相信即可成为现实”, 蛋白质的“死亡”并不是一个非特异性的清除过程, 而是一个严格受调控的生物学事件。蛋白质是执行生命活动的基本分子, 细胞中的蛋白质处于不断地合成、修饰与降解的动态代谢更新过程中。保持细胞正常的蛋白质代谢对于生命的正常功能至关重要, 对维持生命活动有条不紊地进行有重要意义^[1]。

1.1.1 蛋白质降解系统的拓扑学多样性

蛋白质的降解在人体体内是多元化的。主要分为如下三个层面: (1) 体腔外发生的蛋白质降解。食物进入肠道后被很多水解酶所降解, 蛋白质水解酶也包括在其中。蛋白质被降解成氨基酸后一方面降低了抗原性, 另一方面可以被身体所吸收利用。虽然此过程发生在肠道内, 但是严格点说是发生在体腔外的。(2) 体腔内细胞外的蛋白质降解。有很多蛋白质降解过程发生在我们体腔内, 但是在细胞外, 如凝血过程。凝血过程涉及许多级联放大的蛋白质降解反应, 最终纤维原蛋白被转变成纤维蛋白也就实现了凝血^[2]。(3) 细胞内的蛋白质降解。细胞内蛋白因子的组成不是一成不变的, 而是一个高度动态变化的过程。蛋白质的更新包括蛋白质合成和降解。细胞内蛋白质的降解主要通过两条途径: 溶酶体降解和泛素介导的降解。前者主要司职降解从细胞外内吞的蛋白质, 如低密度脂蛋白, 对降解蛋白质选择的特异性相对不高, 只要进入溶酶体的蛋白质大部分都会被降解^[3]; 后者主要降解细胞内的蛋白质, 其特性是将被降解的蛋白质用泛素修饰, 通

过蛋白酶体将泛素修饰的蛋白质降解^[4]。泛素介导的蛋白质降解是高度特异的过程，其自身受到严格调控，蛋白质降解发生会调控其他细胞事件的进行。

1.1.2 泛素介导的蛋白质降解

1.1.2.1 泛素介导的蛋白质降解的发现

泛素介导的蛋白质降解的发现是一个曲折的过程，早在 20 世纪初，德国科研工作者 Rudolf Schoenheimer(1898-1941)就发现人体内的物质不是静态的，而是不断变换转化的。他的发现为蛋白质降解概念的提出奠定了基础。1942 年出版的《The Dynamic State of Body Constituent》总结了他一生的成果。但是一个正确结论的形成需要经历跌宕起伏：20 世纪 50 年代，在对蛋白质的研究中，很多工作都致力于阐述细胞怎样控制特定蛋白质的合成，而对其相反过程即蛋白质的降解研究得相对较少。Jacques Monod 实验室发现同位素标记的 β -半乳糖苷酶蛋白在大肠杆菌(E. coli)中是稳定不变的，因此他们认为蛋白质不会被降解，并主张人们把精力放到 DNA 复制、转录和蛋白质合成的研究上去。然而 β -半乳糖苷酶仅是一个特例，因为这个蛋白很稳定，因此很难检测到降解。与此同时，另外一些实验室发现蛋白质其实是可以降解的，而且此过程需要能量，在当时这是不能被理解的。因为，当时人们普遍认为蛋白质降解仅仅是一个被动地清除过程。在 20 世纪 50 年代，Christian de Duve 博士发现了溶酶体，亚显微结构显示该细胞器中含有许多蛋白质，包括细胞外和细胞内的蛋白质。因此，人们推测溶酶体是蛋白质降解的细胞器。大多数人认为细胞可以内吞胞外的蛋白质，将其运输到溶酶体进行降解，溶酶体也可以通过自噬作用降解胞浆中的蛋白质。这个观念持续了 20 年，直到 20 世纪 70 年代人们发现细胞内蛋白质的半衰期是不同的。如果溶酶体是蛋白质降解的细胞器，很难解释为什么会快速降解其中的一些蛋白质，而另一些蛋白质则是稳定的？这些谜团一直存在，直到 Brian Poole 发现：用 Chloroquine 抑制溶酶体的功能会阻断细胞外蛋白质的降解，但是对细胞内蛋白质的降解影响很小。这说明溶酶体主要降解细胞外的蛋白质，而胞内蛋白质的降解则是通过另一种未知途径完成的。1977 年，goldberg 及其同事在这个领域迈出了第一步，他们从不成熟的红血球及网状细胞中获得了一种提取液，这种提取液在催化异常细胞降解时需要 ATP 的参与。应用这种提取物 Aaron

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库